

# UJI ANTIOKSIDAN DAUN MUDA DAN DAUN TUA GAHARU (*Aquilaria malaccensis* Lamk) BERDASARKAN PERBEDAAN TEMPAT TUMBUH POHON

The test of Antioxidant contained in fresh and Rotten Leaf of Gaharu ( *Aquilaria malaccensis* Lamk ) Based on the Different Of Grown Ground. Supervised by RIDWANTI BATUBARA and SURJANTO

Rizki khadijah Harahap<sup>a</sup>, Ridwanti Batubara<sup>b</sup>, Surjanto<sup>c</sup>

<sup>a</sup>Mahasiswa Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara, Jl. Tri Dharma Ujung No. 1 Kampus USU Medan 20155 (\*Penulis Korespondensi, Email: khadijahrizkikhadijah@yahoo.com)

<sup>b</sup>Staff Pengajar Program Studi Kehutanan, Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara

<sup>c</sup>Staff Pengajar Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara, Jl. Bioteknologi No. 1, Kampus USU, Medan 20155

## ABSTRACT

The leaf of aloe has an antioxidant activity which can reduce free radicals. The research of aloe toward chemical compound of fresh and rotten leaf, and its antioxidant activities. Ethanol extract the leaf of aloe by using maceration method, concentrated by rotary evaporator and evaporated by waterbath. The test of antioxidant activity use DPPH method 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), and an observed parameter is the percentage of free-radical-reduction in 30<sup>th</sup> minute with different concentrations (40ppm, 60ppm, 80ppm, 100ppm) and value of IC<sub>50</sub> (Inhibitory concentrations) is analyzed by using regressions equation. The of EESDG show the percentage of muffled- fresh-research leaf from arboretum of usu (University of north sumatera) is higher as the entianceluent of concentration sample ;92,10% ; 92,10%; 93,80%; 93,80%; and the lowest percentage down to 22,26%; 25,31%; 27,94%; 35,72%. And result of antioxidant activity by using light of spectrophotometer is caught on the wave of 516 nm, and get the result that (EESDG) fresh and rotten leaf from Langkat has IC<sub>50</sub> of 39,70 ppm and 40,03ppm. While fresh and rotten leaf from Arboretum of USU has IC<sub>50</sub> of 28,50 and 43,20 ppm. The research result that the extracts of ethanol and simplisia aloe have a very strong antioxidant activity.

Keywords: gaharu leaf, ethanol extract, antioxidant activity

## PENDAHULUAN

Gaharu termasuk hasil hutan non kayu yang merupakan potensi alami hutan Indonesia. Penyebaran pohon yang dapat menghasilkan gaharu di Indonesia adalah Sumatera, Jawa, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Papua dan Nusa Tenggara. Gaharu merupakan resin yang diperoleh dari hasil infeksi mikroba pada pohon dari famili *Thymeleacea*, *Leguminosae* dan *Euporbiaceae*. Diantara beberapa jenis gaharu terdapat 3 (tiga) jenis yang berkualitas baik yaitu *Aquilaria malaccensis*, *Aquilaria filarial* dan *Aetoxylon sympethallum* (Sumarna, 2002)

*A. malaccensis* Lamk sesuai ditanam di antara kawasan dataran rendah hingga ke pegunungan pada ketinggian 0 – 750 meter di atas permukaan laut dengan curah hujan kurang dari 2000 mm/tahun. Suhu yang sesuai adalah antara 27°C hingga 32°C dengan kadar cahaya matahari sebanyak 70%. Kesesuaian tanah adalah jenis lembut dan liat berpasir dengan pH tanah antara 4.0 hingga 6.0. (Sumarna, 2009).

Pemanfaatan daun gaharu diduga memiliki kandungan senyawa kimia dari golongan flavonoida yaitu flavon, flavonol dan isoflavon sehingga dimanfaatkan daunnya sebagai minuman seduh yang berperan sebagai antioksidan. Berubahnya pola hidup masyarakat serta pola makan yang tidak benar dan

pertambahan usia mengakibatkan pembentukan radikal bebas dalam tubuh. Padatnya aktivitas kerja cenderung menyebabkan masyarakat mengkonsumsi makanan yang serba instan dan menerapkan pola makan yang tidak sehat. Makanan yang tidak sehat akan menyebabkan akumulasi jangka panjang terhadap radikal bebas di dalam tubuh. Lingkungan tercemar, kesalahan pola makan dan gaya hidup, mampu merangsang tumbuhnya radikal bebas (*free radical*) yang dapat merusak tubuh (Mega dan Swastini, 2010).

Upaya untuk mencegah atau mengurangi resiko yang ditimbulkan oleh aktivitas radikal bebas adalah dengan mengkonsumsi makanan atau suplemen yang mengandung antioksidan. Antioksidan dapat menetralkan radikal bebas dengan cara mendonorkan satu atom protonnya sehingga membuat radikal bebas menjadi stabil dan tidak reaktif (Lusiana, 2010).

Penelitian Mega dan Swastini (2010) menjelaskan bahwa senyawa metabolit sekunder flavonoid, terpenoid dan senyawa fenol diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antiradikal bebas (antioksidan). Antioksidan alami tersebar di beberapa bagian tanaman, seperti pada kayu, kulit kayu, akar, buah, bunga, biji, dan daun (Trilaksani, 2003).

Dalam pertumbuhan pohon terbentuk daun muda dan daun tua. Berdasarkan pemanfaatannya, digunakan daun muda dan daun tua. Untuk mengetahui kandungan golongan senyawa kimia dan menguji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gaharu berdasarkan pengambilan sampel daun muda dan daun tua pada tempat tumbuh pohon yang berbeda maka perlu dilakukan penelitian ini.

## METODOLOGI

### Waktu dan Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Maret hingga Agustus 2015. Tempat pengambilan sampel dilakukan di Arboretum Universitas Sumatera Utara, Kabupaten Deli Serdang, Provinsi Sumatera Utara dan di Bohorok, Kabupaten Langkat Provinsi Sumatera Utara. Uji fitokimia ekstraksi dan pengamatan aktivitas antioksidan dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Penelitian, Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

### Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) yang muda dan tua. Bahan kimia yang digunakan adalah bahan-bahan kimia lainnya yang berkualitas pro analisis adalah DPPH (Sigma), produksi E-Merck: metanol, toluen, kloroform, isopropil alkohol, benzen, *n*-heksana, asam nitrat pekat, asam klorida pekat, asam sulfat pekat, raksa (II) klorida, bismut (III) nitrat, besi (III) klorida, timbal (II) asetat, kalium iodida, kloralhidrat, asam asetat anhidrida, natrium hidroksida, amil alkohol, natrium sulfat anhidrat, serbuk magnesium. Bahan kimia berkualitas teknis adalah etanol 96% dan air suling.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi alat-alat gelas laboratorium (erlenmeyer, gelas beaker, gelas corong, gelas ukur, labu alas bulat, labu tentukur, tabung reaksi), aluminium foil, blender (National), lemari pengering, oven listrik, neraca kasar (O'haus), neraca digital (Vibra), desikator, *stopwatch*, cawan porselin, lemari pengering, krus tang dan pisau, *rotary evaporator* (Heidolph VV-300), *freeze dryer* (Edwards), spektrofotometer UV/Vis (Shimadzu UV-1800) dan kamera digital.

### Prosedur Penelitian

#### Pengambilan Sampel Tanaman

Pengambilan sampel dilakukan secara purposif dengan tidak membandingkan tanaman yang sama dari daerah yang lain. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun

gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) yang diambil dari Arboretum Universitas Sumatera Utara, Kecamatan Pancur Batu, Kabupaten Deli Serdang dan di Bahorok, Kabupaten Langkat Provinsi Sumatera Utara.

### Persiapan Bahan Baku

Pada tahapan ini sampel daun gaharu yang muda maupun tua dibersihkan dari kotoran yang menempel dengan air mengalir, kemudian disebarkan di atas kertas perkamen hingga airnya terserap. Bahan dikeringkan di lemari pengering hingga kering dan rapuh. Pengeringan bahan baku daun dilakukan dengan cara pengeringan secara buatan yaitu menggunakan lemari pengering dengan suhu 40°C-50°C. Tujuan pengeringan ini adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Pengeringan ini juga bertujuan untuk mengurangi kadar air bahan baku dan menghentikan reaksi enzimatis yang dapat menurunkan mutu atau merusak simplisia. Pengeringan dengan cara buatan dapat diperoleh simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringan akan lebih merata dan waktu yang diperlukan untuk pengeringan akan lebih cepat, tanpa dipengaruhi oleh cuaca (Ditjen POM, 1995). Daun yang telah kering dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender. Pembuatan serbuk dari daun sangat penting karena dapat meningkatkan kontak antara pelarut, atau pereaksi terhadap luas permukaan partikel serbuk sehingga pelarut atau pereaksi dapat masuk ke dalam serbuk dan akan mengeluarkan zat kimia yang akan bercampur dengan zat penyari sehingga proses penyarian dapat berlangsung secara efektif. Simplisia yang telah menjadi serbuk dimasukkan ke dalam wadah yang terlindung dari sinar matahari sebelum dilakukan proses ekstraksi (Ditjen POM, 1979).

### Pembuatan Pereaksi

#### 1. Pereaksi Bouchardat

Sebanyak 4 g kalium iodida ditimbang, dilarutkan dalam air suling secukupnya, lalu ditambahkan 2 g iodium kemudian ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

#### 2. Pereaksi Mayer

Sebanyak 1,4 g raksa (II) klorida dilarutkan dalam air suling hingga 60 ml, pada wadah lain ditimbang sebanyak 5 g kalium iodida lalu dilarutkan dalam 10 ml air suling, kedua larutan dicampurkan dan ditambahkan air suling

hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

3. Pereaksi Dragendorff

Sebanyak 0,8 g bismut (III) nitrat ditimbang, dilarutkan dalam 20 ml asam nitrat pekat, pada wadah lain ditimbang sebanyak 27,2 g kalium iodida, dilarutkan dalam 50 ml air suling, kemudian kedua larutan dicampurkan dan didiamkan sampai memisah sempurna. Larutan yang jernih diambil dan diencerkan dengan air suling hingga volume larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

4. Pereaksi Molish

Sebanyak 3 g  $\alpha$ -naftol ditimbang, dilarutkan dalam asam nitrat 0,5 N hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1979).

5. Pereaksi Asam Klorida 2 N

Sebanyak 17 ml larutan asam klorida pekat ditambahkan air suling hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1979).

6. Pereaksi Natrium Hidroksida 2 N

Sebanyak 8 g kristal natrium hidroksida dilarutkan dengan air suling sebanyak 100 ml (Ditjen POM, 1979).

7. Pereaksi Asam Sulfat 2 N

Sebanyak 5,4 ml larutan asam sulfat pekat ditambahkan air suling sampai 100 ml (Ditjen POM, 1995).

8. Pereaksi Timbal (II) Asetat 0,4 M

Sebanyak 15,17 g timbal (II) asetat ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air suling bebas karbon dioksida sebanyak 100 ml (Ditjen POM, 1995).

9. Pereaksi Besi (III) Klorida 1%

Sebanyak 1 g besi (III) klorida ditimbang, kemudian dilarutkan dalam air secukupnya hingga diperoleh larutan 100 ml (Ditjen POM, 1995).

10. Pereaksi Liebermann-Burchard

Sebanyak 20 bagian asam asetat anhidrida dicampur dengan 1 bagian asam sulfat pekat. Larutan pereaksi ini harus dibuat baru (Harborne, 1987).

11. Larutan DPPH 0,5 mM

Sebanyak 20 mg DPPH ditimbang kemudian dilarutkan dalam metanol hingga diperoleh volume larutan 100 ml (konsentrasi 200 ppm) (Molyneux, 2004).

### Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan metode Azeotropi (Destilasi Toluena). Alat-alat terdiri dari labu alas bulat 500 ml, alat penampung, pendingin, tabung penyambung, tabung penerima 5 ml.

Cara kerjanya yaitu dengan memasukkan 100 ml toluena dan 1 ml air suling ke dalam labu

alas bulat, didestilasi selama 2 jam, kemudian didinginkan selama 30 menit dan dibaca volume air di dalam tabung penerima. Dimasukkan 2,5 g sampel yang telah ditimbang ke dalam labu ukur, lalu dipanaskan selama 15 menit. Setelah toluena mendidih, kecepatan tetesan diatur 2 tetes untuk tiap detik sampai sebagian air terdestilasi, kemudian kecepatan destilasi dinaikkan sampai 4 tetes tiap detik. Setelah semua air terdestilasi, bagian dalam pendingin dibilas dengan toluena, destilasi dilanjutkan selama 5 menit, kemudian tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Setelah air dan toluena memisah sempurna, dibaca volume air dengan ketelitian 0,05 ml. Kadar air dihitung dalam persen (WHO, 1998).

### Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah pemeriksaan kimia secara kualitatif terhadap senyawa-senyawa aktif biologis yang terdapat dalam simplisia dan ekstrak tumbuhan. Senyawa-senyawa tersebut adalah senyawa organik, oleh karena itu skrining terutama ditujukan untuk golongan senyawa organik seperti alkaloida, glikosida, flavonoid, steroid/terpenoid, tanin dan saponin. Skrining merupakan langkah awal dari pemeriksaan tumbuhan tersebut untuk membuktikan ada tidaknya senyawa kimia tertentu dalam tumbuhan tersebut yang dapat dikaitkan dengan aktivitas biologinya (Farnsworth, 1996).

Skrining fitokimia meliputi pemeriksaan senyawa golongan alkaloida, glikosida, steroid/triterpenoid, flavonoid, tanin dan saponin.

1. Pemeriksaan Alkaloid

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang, ditambahkan 1 ml asam klorida 2 N dan 9 ml air suling, dipanaskan di atas penangas air selama 2 menit, didinginkan dan disaring, filtrat dipakai untuk uji alkaloida. Diambil 3 tabung reaksi, lalu ke dalam masing-masing tabung reaksi dimasukkan 0,5 ml filtrat.

- Pada tabung I, ditambahkan 2 tetes pereaksi Mayer, akan terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
- Pada tabung II, ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendorff, akan terbentuk endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan.
- Pada tabung III, ditambahkan 2 tetes pereaksi Bouchardat, akan terbentuk endapan berwarna coklat sampai kehitaman.

Alkaloid disebut positif jika terjadi endapan atau kekeruhan pada dua atau tiga dari percobaan di atas (Ditjen POM, 1995).

## 2. Pemeriksaan Glikosida

Sebanyak 3 g serbuk simplisia ditimbang, disari dengan 30 ml campuran dari tujuh bagian etanol 95% dengan tiga bagian air suling (7:3) dan 10 ml asam klorida 2N. Kemudian direfluks selama 10 menit, didinginkan, lalu disaring. Diambil 20 ml filtrat ditambahkan 25 ml air suling dan 25 ml timbal (II) asetat 0,4 M dikocok, didiamkan 5 menit lalu disaring. Filtrat disari dengan 20 ml campuran isopropanol dan kloroform (2:3), perlakuan ini diulangi sebanyak 3 kali. Sari air dikumpulkan kemudian diuapkan pada temperatur tidak lebih dari 50°C, sisanya dilarutkan dalam 2 ml metanol. Larutan sisa digunakan untuk percobaan berikut, 0,1 ml larutan percobaan dimasukkan dalam tabung reaksi, kemudian diuapkan di atas penangas air. Pada sisa ditambahkan 2 ml air dan 5 tetes larutan pereaksi Molish, lalu ditambahkan dengan perlahan-lahan 2 ml asam sulfat pekat melalui dinding tabung, terbentuk cincin ungu pada batas kedua cairan, menunjukkan adanya ikatan gula (glikon) atau glikosida (Ditjen POM, 1995).

## 3. Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia ditimbang, dimaserasi dengan 20 ml *n*-heksan selama 2 jam, disaring, lalu filtrat diuapkan dalam cawan penguap. Pada sisa ditambahkan 20 tetes asam asetat anhidrida dan 1 tetes asam sulfat pekat (pereaksi Lieberman-Burchard), timbulnya warna biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroida, sedangkan warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Harborne, 1987).

## 4. Pemeriksaan Flavonoid

Sebanyak 10 g serbuk simplisia ditimbang, dilarutkan 100 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring dalam keadaan panas, ke dalam 5 ml filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk magnesium dan 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid positif jika terjadi warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Farnsworth, 1996).

## 5. Pemeriksaan Tanin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang, disari dengan 10 ml air suling lalu disaring, filtratnya diencerkan dengan air sampai tidak berwarna. Larutan diambil sebanyak 2 ml dan ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Ditjen POM, 1995).

## 6. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0,5 g serbuk simplisia ditimbang, dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air suling panas, didinginkan,

kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif jika terbentuk busa yang stabil tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 sampai 10 cm dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2 N buih tidak hilang (Ditjen POM, 1995).

## Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*A. malaccensis* Lamk)

Pembuatan ekstrak dilakukan secara maserasi dengan pelarut etanol 96%, sebanyak 200 g serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah kaca, dituangi dengan 1500 ml etanol 96%, ditutup, dibiarkan selama 5 hari terlindung dari cahaya dan sesekali diaduk. Setelah 5 hari campuran tersebut diserkai (saring). Ampas dicuci dengan etanol 96% secukupnya hingga diperoleh 2000 ml, lalu dipindahkan dalam bejana tertutup dan dibiarkan di tempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari, kemudian dienaptuangkan lalu disaring. Maserat dipekatkan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 40°C sampai diperoleh maserat pekat kemudian dikeringkan menggunakan *freeze dryer* sehingga diperoleh ekstrak kering (Ditjen POM, 1979).

## Pengujian Kemampuan Antioksidan dengan Spektrofotometer UV-Visibel

### 1. Prinsip metode pemerangkapan radikal bebas DPPH

Kemampuan sampel uji dalam meredam proses oksidasi radikal bebas DPPH dalam larutan metanol (sehingga terjadi perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning) dengan nilai  $IC_{50}$  (konsentrasi sampel uji yang memerangkap radikal bebas 50%) sebagai parameter menentukan aktivitas antioksidan sampel uji tersebut.

### 2. Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH 0,5 mM (konsentrasi 200 ppm) dipipet sebanyak 5 ml, kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml, dicukupkan volumenya dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 40 ppm).

### 3. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum

Larutan DPPH konsentrasi 40 ppm dihomogenkan dan diukur serapannya pada panjang gelombang 400-800 nm.

### 4. Pembuatan Larutan Induk

Sebanyak 25 mg ekstrak daun gaharu (*A. Malaccensis* Lamk.) ditimbang kemudian dilarutkan dalam labu tentukur 25 ml dengan metanol lalu volumenya dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda (konsentrasi 1000 ppm).

### 5. Pembuatan Larutan Uji

Larutan induk dipipet sebanyak 1 ml; 1,5 ml; 2 ml; 2,5 ml kemudian masing-masing

dimasukkan ke dalam labu tentukur 25 ml (untuk mendapatkan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm), kemudian dalam masing-masing labu tentukur ditambahkan 5 ml larutan DPPH 0,5 mM (konsentrasi 40 ppm) lalu volume dicukupkan dengan metanol sampai garis tanda, didiamkan di tempat gelap, lalu diukur serapannya dengan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 516 nm, pada waktu selang 5 menit mulai dari 0 menit hingga 30 menit.

#### Penentuan Persen Peredaman

Penentuan persen pemerangkapan radikal bebas oleh sampel uji ekstrak etanol daun gaharu, menggunakan metode pemerangkapan radikal bebas 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil (DPPH), yaitu dihitung dengan menggunakan rumus:

$$\% \text{ Peredaman} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100\%$$

Keterangan:

$A_{\text{kontrol}}$  = Absorbansi tidak mengandung sampel

$A_{\text{sampel}}$  = Absorbansi sampel

(Andayani, *et al.*, 2008).

#### Penentuan Nilai IC<sub>50</sub>

Nilai IC<sub>50</sub> merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi sampel uji (µg/ml) yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50% (mampu meredam proses oksidasi DPPH sebesar 50%). Nilai 0% berarti tidak mempunyai aktivitas antioksidan, sedangkan nilai 100% berarti peredaman total dan pengujian perlu dilanjutkan dengan pengenceran larutan uji untuk melihat batas konsentrasi aktivitasnya. Hasil perhitungan dimasukkan ke dalam persamaan regresi ( $Y=AX+B$ ) dengan konsentrasi ekstrak (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai % peredaman (antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu Y).

Secara spesifik, suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm, kuat untuk IC<sub>50</sub> bernilai 50-100 ppm, sedang jika IC<sub>50</sub> bernilai 100-150 ppm, dan lemah jika IC<sub>50</sub> bernilai 151-200 ppm (Mardawati, *et al.*, 2008).

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### Penetapan Kadar Air Simplisia

Penetapan kadar air sangat berhubungan dengan mutu simplisia. Penetapan kadar air dilakukan untuk memberikan batasan minimal kandungan air yang masih dapat ditolerir di dalam simplisia maupun ekstrak. Penetapan kadar air di bawah ini lebih rendah di bandingkan dengan penetapan kadar air simplisia daun gaharu oleh peneliti Silaban, 2013 (6,32%).

Penentuan kadar air berguna untuk menduga keawetan atau ketahanan sampel dalam penyimpanan serta untuk mengoreksi rendemen yang dihasilkan. Kadar air simplisia bahan alam biasanya harus lebih rendah dari 10% agar bakteri atau jamur tidak tumbuh sehingga simplisia dapat disimpan dalam waktu yang lama (Winarno, 1992). Kadar air simplisia tersebut telah memenuhi syarat standarisasi kadar air simplisia yaitu tidak melebihi 10% (Ditjen POM, 1995). Hasil pengukuran rata-rata kadar air simplisia daun muda dan daun tua gaharu terlihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Rata-rata Kadar Air Simplisia Daun Gaharu

Tempat	Daun ( % )	
	Muda	Tua
Arboretum USU	4,99	3,99
Langkat	6,99	5,99

Dari Tabel 2 diperoleh bahwa hasil pengukuran kadar air simplisia daun muda gaharu memiliki kandungan air yang tinggi dibandingkan kadar air daun tua gaharu. Kadar air simplisia daun muda gaharu lebih tinggi disebabkan daun muda gaharu lebih mudah terserang bakteri dan jamur yang dapat menyebabkan kandungan air tinggi. Hasil pengukuran tabel 2 telah memenuhi syarat standarisasi kadar air simplisia yaitu tidak melebihi 10% (Ditjen POM, 1995).

#### Ekstraksi Daun Gaharu

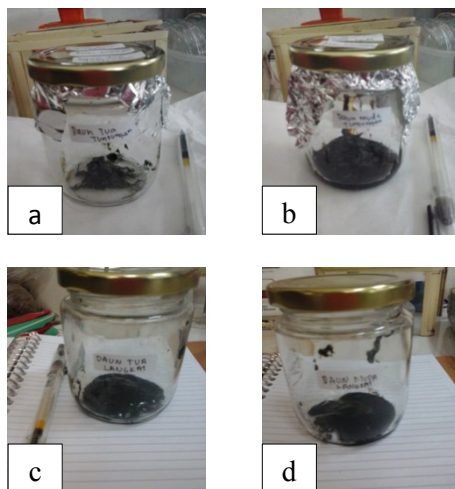
Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi cara dingin yang tepatnya dengan metode maserasi. Ekstraksi merupakan suatu proses penarikan komponen yang diinginkan dari suatu bahan. Cara ekstraksi yang paling sederhana yaitu maserasi, karena bahan yang akan diekstrak cukup dilarutkan di dalam pelarut pada perbandingan tertentu dan menggunakan alat-alat sederhana. Daun Gaharu yang sudah halus dicampur dengan pelarut etanol, sedangkan lama maserasi adalah tiga hari dengan perendaman ulang terhadap residu selama dua hari.

Pelarut etanol yang digunakan dalam proses maserasi sangat mempengaruhi hasil ekstrak. Etanol merupakan pelarut semi polar yang juga dapat mengekstrak komponen lainnya yang bersifat non polar ataupun polar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Putri dkk. (2010) yang menyatakan bahwa pelarut etanol dapat melarutkan hampir semua senyawa organik dari sampel. Menurut Heath dan Reineccius (1986)

bahwa etanol mampu mengekstrak senyawa organik, sebagian lemak serta tanin yang menyebabkan hasil ekstraksi metanol cukup kuat. Selain itu, pelarut etanol memiliki nilai konstanta dielektrik tinggi jika dibandingkan dengan pelarut yang lain sehingga pelarut etanol dapat membuka dinding sel yang mengakibatkan hampir semua senyawa dapat tertarik keluar dari dalam sel.

Serbuk daun gaharu yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 200 gram untuk semua perlakuan dengan pelarut etanol. Senyawa-senyawa yang terdapat dalam ekstrak etanol merupakan senyawa-senyawa polar karena etanol merupakan pelarut organik yang bersifat polar dan semi polar. Hal ini sesuai dengan pernyataan Dharmawan, dkk. (1999) bahwa senyawa akan mudah larut dalam pelarut yang sama polaritasnya.

Ekstrak kering etanol daun gaharu yang muda dan yang tua dari tempat tumbuh pohon yang berada di Arboretum usu dan di Langkat terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Ekstrak Kering Etanol Daun Gaharu  
a. Ekstrak daun tua dari Arboretum usu  
b. Ekstrak daun muda Arboretum usu  
c. Ekstrak daun tua Langkat  
d. Ekstrak daun muda Langkat

Pelarut yang digunakan juga tidak mempengaruhi hasil warna dari setiap jenis daun, cairan hasil penyarian berwarna hitam. Selanjutnya cairan di *rotary* untuk menarik kembali pelarut sehingga yang tersisa hanya ekstrak, ekstrak hasil *rotary* berwarna hitam dan berbentuk cair kental untuk semua jenis daun, hal ini menunjukkan bahwa pelarut yang digunakan menguap secara sempurna pada saat dilakukan *rotary* sehingga yang tersisa adalah ekstrak pekatnya, selanjutnya ekstrak pekat dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer*

untuk menghilangkan sisa etanol pada ekstrak pekat sehingga diperoleh ekstrak kering. Pengeringan juga tidak mempengaruhi warna dan bentuk dari ekstrak, hasil pengeringan menghasilkan ekstrak berwarna hitam dan pekat. Hasil Ekstrak Etanol Simplisia Daun Gaharu terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Ekstrak Etanol Simplisia Daun Gaharu

Jenis Daun	Ekstrak Kering (g)
Muda Arboretum	14,07
Tua Arboretum	1,26
Muda Langkat	5,69
Tua Langkat	8,01

Hasil yang diperoleh pada Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari daun muda dari Arboretum USU sebesar 14,07 dari 200 g daun segar, daun tua dari Arboretum USU sebesar 1,26 dari 200 g daun segar, daun muda dari Langkat sebesar 5,69 dari 200 g daun segar dan daun tua dari Langkat sebesar 8,01 dari 200 g daun segar. Ekstrak etanol daun muda Arboretum USU lebih tinggi karena pada saat pembuatan ekstrak alat yang digunakan (*rotary*) tidak mengalami kerusakan, sedangkan pada ekstrak yang lain tidak dengan menggunakan *rotary* melainkan dengan menggunakan *waterbath*. Dengan menggunakan alat *rotary* lebih mendapatkan banyak ekstrak dibandingkan dengan menggunakan *waterbath* karena *rotary* menarik kembali pelarut sehingga yang tersisa hanya ekstrak. Menurut Harborne (1987) hasil ekstrak yang diperoleh akan sangat tergantung pada beberapa faktor antara lain kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi yang digunakan, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel.

### Hasil Skrining Fitokimia

Pada Tabel 4 diperoleh bahwa simplisia dan ekstrak etanol positif memiliki senyawa glikosida, steroid/triterpenoid, flavonoid dan tanin. Perbedaan dapat dilihat pada saponin, dimana pada simplisia saponin tidak terdeteksi sedangkan pada ekstrak metanolnya positif mengandung saponin hal ini dikarenakan pelarut etanol bersifat semipolar yang dapat menarik analit yang bersifat polar dan nonpolar sehingga saponin akan cenderung tertarik oleh pelarut semi polar.

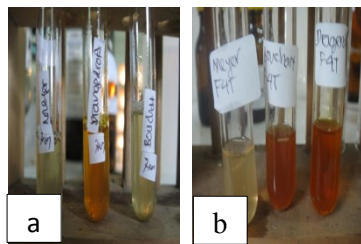
Hasil skrining pada penelitian sebelumnya positif memiliki senyawa glikosida, steroid/triterpenoid, flavonoid, dan tanin. Hasil

pemeriksaan senyawa – senyawa kimia tersebut dilihat berdasarkan perbedaan tempat tumbuh pohon gaharu (*Aquilaria malaccensis* Lamk.) dapat dibandingkan bahwa berdasarkan perbedaan tempat tumbuh pohon tetap memiliki persamaan dalam senyawa-senyawa kimia pada daun gaharu dan tidak memiliki perbedaan. Senyawa ini diantaranya berfungsi sebagai pelindung terhadap serangan atau gangguan yang ada di sekitar, sebagai antibiotik dan juga sebagai antioksidan.

#### 1. Alkaloid

Senyawa alkaloid tidak terdapat pada simplisia daun gaharu maupun ekstrak etanolnya. Hal ini ditandai dengan tidak adanya endapan berwarna putih atau kuning pada pereaksi Meyer, endapan berwarna coklat atau jingga kecoklatan pada pereaksi Dragendorff dan endapan berwarna coklat sampai kehitaman pada pereaksi Bouchardat.

Hasil pemeriksaan senyawa Alkaloid negatif pada simplisia daun gaharu maupun ekstrak etanolnya, seperti terlihat pada Gambar 2.



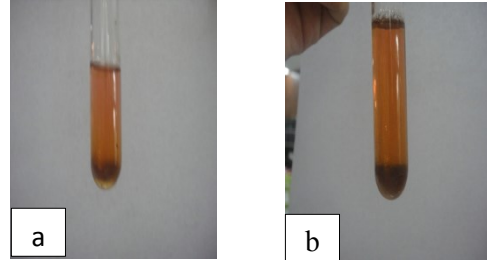
Gambar 2. Pemeriksaan Alkaloid a. Simplisia b. Ekstrak etanol

Pengujian ini hanya menghasilkan larutan jernih pada penambahan pereaksi Mayer, warna kuning pada penambahan pereaksi Bouchardat dan warna coklat pada pereaksi Dragendorff. Hampir semua alkaloid yang ditemukan di alam mempunyai keaktifan biologis tertentu, ada yang sangat beracun tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Jenis dan konsentrasi alkaloid dapat menjadi sangat beracun, salah satu jenis alkaloid yang beracun adalah nikotin. Alkaloid memiliki kegunaan dalam bidang medis, antara lain sebagai analgetika dan narkotika, mengubah kerja jantung, penurunan tekanan darah, obat asma, sebagai antimalaria, stimulan uterus, dan anastesi lokal (Sirait 2007).

#### 2. Glikosida

Hasil uji terhadap simplisia daun gaharu dan ekstrak etanol daun gaharu menunjukkan adanya senyawa glikosida. Penambahan pereaksi Molish dan asam sulfat pekat

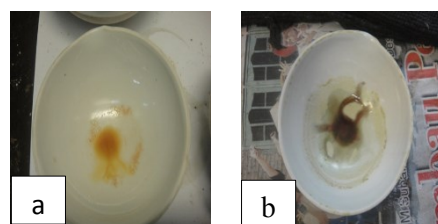
membentuk cincin ungu yang menunjukkan kandungan glikosida. Kegunaan glikosida bagi tanaman yaitu sebagai cadangan gula untuk sementara, menjaga diri terhadap hama dan penyakit, mencegah saingan dari tanaman lain, pengatur turgor dan mencegah keracunan (Sirait, 2007). Hasil pemeriksaan Glikosida positif, terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Pemeriksaan Glikosida a. Simplisia b. Ekstrak etanol

#### 3. Steroid/Triterpenoid

Hasil uji fitokimia simplisia daun gaharu dan ekstrak etanol daun gaharu menunjukkan pada daun gaharu terdapat steroid/triterpenoid. Timbulnya warna merah setelah penambahan asam asetat anhidrida dan asam sulfat pekat menunjukkan adanya steroid/triterpenoid pada daun gaharu. Triterpenoid adalah senyawa alam yang terbentuk dengan proses biosintesis dan terdistribusi secara luas dalam dunia tumbuhan dan hewan (Sirait 2007). Senyawa-senyawa golongan triterpenoid diketahui memiliki aktivitas fisiologis tertentu, seperti antijamur, antibakteri, antivirus, kerusakan hati, gangguan menstruasi, dan dapat mengatasi penyakit diabetes (Asih, dkk. 2010).



Gambar 4. Pemeriksaan Steroid/Triterpenoid a. Simplisia b. Ekstrak etanol

#### 4. Flavonoid

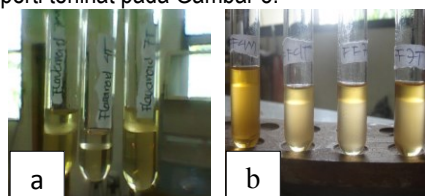
Senyawa flavanoid positif pada simplisia dan ekstrak etanol ditandai dengan terbentuknya warna kuning pada simplisia dan warna merah pada ekstrak etanol pada lapisan amil alkoholnya. Flavonoid mencakup banyak pigmen dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan. Senyawa flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa-senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu dan biru serta sebagai zat warna kuning yang ditemukan dalam



tumbuh-tumbuhan. Sejumlah flavonoid mempunyai rasa pahit sehingga dapat bersifat menolak jenis ulat tertentu (Lenny, 2006). Flavonoid umumnya terdapat pada tumbuhan sebagai glikosida dan terdapat pada seluruh bagian tanaman termasuk pada buah, tepung sari, dan akar (Sirait, 2007). Flavonoid pada tumbuhan berguna untuk menarik serangga dan binatang lain untuk membantu proses penyerbukan dan penyebaran biji. Flavonoid dapat berguna bagi kehidupan manusia. Flavon dalam dosis kecil bekerja sebagai stimulan pada jantung, hesperidin mempengaruhi pembuluh darah kapiler. Flavon yang terhidroksilasi bekerja sebagai diurematik dan sebagai antioksidan pada lemak (Sirait, 2007).

Terbentuknya warna kuning pada simplisia di lapisan amil alkohol dan warna merah pada ekstrak etanol di lapisan amil alkohol maka dapat dikatakan bahwa daun gaharu berpotensi sebagai antioksidan yang berfungsi bagi manusia untuk menangkalkan radikal bebas. Hal ini sesuai dengan pendapat Muchtadi (2001) yang menyatakan bahwa Flavonoid sangat efektif untuk digunakan sebagai antioksidan karena komponen bioaktif ini merupakan komponen fenol terbesar. Senyawa-senyawa fenolat yang terkandung dalam tumbuhan mampu menangkap radikal-radikal peroksida dan dapat mengkelat logam besi yang mengkatalis peroksida lemak. Efektivitas sebagai antioksidan tergantung pada jumlah dan posisi OH, senyawa flavonoid ini banyak terdapat pada bagian daun tanaman. Selain itu sebagai antioksidan, senyawa ini dapat juga menangkap spesies oksigen reaktif (ROS) yang terbentuk selama proses pencernaan makanan di dalam tubuh. Senyawa flavonoid tersebut bertindak sebagai penangkap radikal bebas karena gugus hidroksil yang dikandungnya mendonorkan hidrogen kepada radikal bebas. Senyawa tersebut mampu menetralkan radikal bebas dengan memberikan elektron kepadanya sehingga atom dengan elektron yang tidak berpasangan mendapat pasangan elektron dan tidak lagi menjadi radikal (Silalahi, 2006).

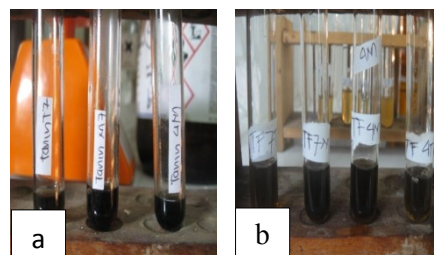
Hasil Pemeriksaan senyawa Flavonoid positif dengan terbentuknya warna kuning pada simplisia dan warna merah pada ekstrak etanol seperti terlihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Pemeriksaan Flavonoid  
a. Simplisia b. Simplisia

## 6. Tanin

Tanin secara umum didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang memiliki berat molekul cukup tinggi (lebih dari 1000) dan dapat membentuk kompleks dengan protein (Malanggi, dkk, 2012). Dari hasil pemeriksaan terhadap simplisia daun gaharu dan ekstrak etanol daun gaharu menunjukkan adanya senyawa tanin pada daun gaharu, penambahan  $\text{FeCl}_3$  1% terhadap filtrat yang telah diencerkan menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya senyawa tanin. Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan (Desmiaty, dkk., 2008). Kandungan tanin yang terkandung dalam daun gaharu berpotensi sebagai antioksidan untuk menangkalkan radikal bebas. Hasil pemeriksaan tanin positif dengan adanya warna hijau kehitaman seperti terlihat pada Gambar 6.



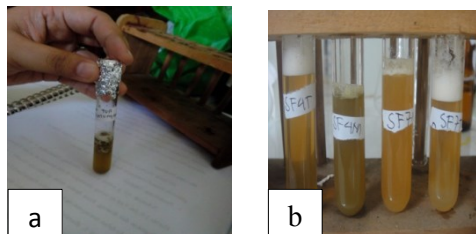
Gambar 6. Pemeriksaan Tanin  
a. Simplisia  
b. Ekstrak etanol

## 7. Saponin

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah (Sirait, 2007). Dari hasil pengujian terhadap simplisia daun gaharu dan ekstrak etanolnya terbentuk busa setelah pengocokan, tetapi setelah penambahan asam klorida (HCl) 2 N busa hilang dan tidak stabil pada filtrat simplisia dan pada ekstrak metanol daun gaharu busa tidak hilang dan stabil hal ini disebabkan karena etanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan analit yang bersifat polar dan nonpolar. Etanol dapat menarik alkaloid, steroid, saponin, dan flavonoid dari tanaman (Thompson, 1985). Senyawa saponin tersebut akan cenderung tertarik oleh pelarut yang bersifat semi polar seperti etanol. Timbulnya busa pada uji saponin menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan untuk membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa



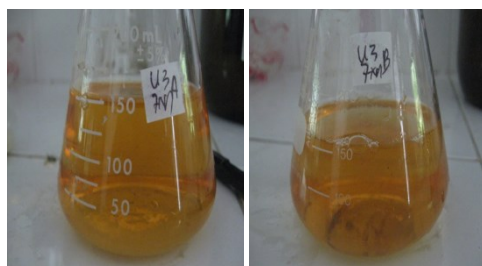
lainnya (Marliana, dkk., 2005). Hasil pemeriksaan saponin terlihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Pemeriksaan Saponin Setelah Penambahan HCl 2N a.simplisia  
b. Ekstrak etanol

#### Kadar Tanin

Hasil pengukuran kadar tanin pada simplisia daun gaharu terlihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Pengukuran Kadar Tanin Pada Simplisia Daun Gaharu

Hasil penetapan kadar rata - rata tanin daun gaharu berdasarkan perbedaan tempat tumbuh pohon terlihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Rata-rata Pengukuran Kadar Tanin Daun Gaharu

Tempat	Kadar tanin pada daun (%)		Rata-rata (%)
	Muda	Tua	
Arboretum	1,62	1,80	1,71
Langkat	1,00	1,17	1,08
Rata-rata	2,62	2,97	

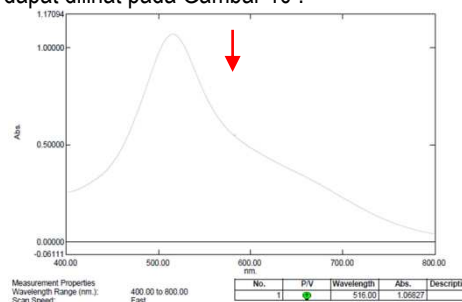
Pada table 5. Menunjukkan bahwa daun tua gaharu dari arboretum usu lebih tinggi kadar taninnya dibandingkan daun muda gaharu dari langkat karena umur pohon dari jenis daun berbeda, pada daun tua gaharu dari arboretum berumur 7 tahun, sedangkan umur pohon pada daun muda dari langkat berumur 4 tahun. Faktor umur berpengaruh nyata terhadap kandungan senyawa tanin, semakin bertambah umur pohon gaharu maka kandungan tanin yang terdapat pada daun akan semakin tinggi. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa semua bagian daun dari arboretum usu dan dari langkat layak

digunakan sebagai minuman seduh karena jumlah kadar tanin yang terkandung dari tiap daun tidak jauh berbeda dan tidak memberikan rasa sepat jika digunakan menjadi minuman yang diseduh. Berdasarkan kadar tanin daun gaharu yang diteliti tidak bisa digunakan sebagai obat karena tidak memenuhi standar Depkes RI yaitu senyawa tanin 9- 12%, minyak atsiri, minyak lemak, dan asam sulfat (Depkes, 1989).

#### Hasil Penentuan Panjang Gelombang Serapan Maksimum ( $\lambda_{maks}$ )

Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol daun gaharu diukur dengan metode pemerangkapan 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang serapan maksimum, yaitu panjang gelombang dimana terjadi serapan maksimum. Panjang gelombang serapan maksimum adalah panjang gelombang maksimum DPPH yang masih tersisa dalam larutan. Pengukuran serapan maksimum larutan DPPH 40 ppm dalam metanol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Visibel.

Hasil pengukuran serapan maksimum dapat dilihat pada Gambar 10 .



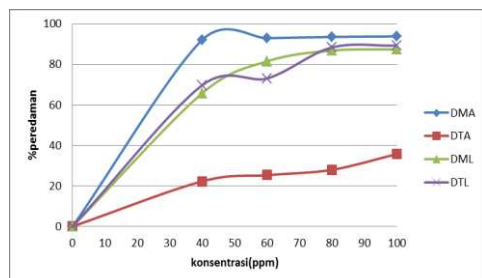
Gambar 9. Kurva Serapan Maksimum Larutan DPPH 40 ppm dalam Metano Secara Spektrofotometri Visibel.

Hasil pengukuran yang dilakukan menunjukkan bahwa larutan DPPH dalam metanol menghasilkan serapan maksimum pada panjang gelombang 516 nm. Panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{maks}$ ) yang dipergunakan adalah pengukuran yang memberi serapan maksimum (Molyneux, 2004). Karena pada panjang gelombang tersebut perubahan serapan untuk setiap satuan konsentrasi adalah paling besar.

#### Hasil Analisis Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol simplisia daun gaharu diperoleh dari hasil pengukuran absorbansi dengan metode DPPH pada menit ke-30 dengan adanya penambahan larutan uji dengan konsentrasi 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm yang dibandingkan dengan kontrol DPPH (tanpa penambahan larutan uji).

Pada hasil analisis aktivitas antioksidan dapat dilihat adanya penurunan nilai absorbansi DPPH yang diberi larutan uji terhadap kontrol pada setiap kenaikan konsentrasi dan penurunan nilai absorbansi terbesar setelah dilakukan penyimpanan. Perubahan nilai absorbansi tersebut dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil Analisis Aktivitas Antioksidan Berdasarkan Tempat Tumbuh Pohon

Hasil analisis aktivitas Antioksidan ekstrak etanol simplisia daun gaharu berdasarkan perbedaan tempat tumbuh menunjukkan penurunan absorbansi yang semakin besar dan menunjukkan aktivitas antioksidan yang semakin besar. Ekstrak etanol simplisia daun muda Arboretum USU memiliki kemampuan yang paling besar dalam menurunkan nilai absorbansi DPPH, sedangkan daun tua Arboretum USU juga memiliki kemampuan aktivitas antioksidan dalam menurunkan radikal DPPH tetapi kemampuannya berkurang. Penurunan nilai absorbansi di atas menunjukkan bahwa terjadi penangkapan/peredaman radikal bebas DPPH oleh larutan uji sehingga menunjukkan adanya aktivitas antioksidan dari sampel jika dihubungkan dengan hasil skrining fitokimia terhadap serbuk simplisia maupun ekstrak etanol daun gaharu, maka dapat diduga bahwa sifat antioksidan dari ekstrak etanol daun gaharu ini diakibatkan oleh senyawa fenolik yang terkandung di dalamnya. Senyawa-senyawa metabolit sekunder inilah yang diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antiradikal bebas karena gugus-gugus fungsi yang ada dalam senyawa tersebut seperti gugus OH yang dalam pemecahan heterolitiknya akan menghasilkan radikal O (O.) dan radikal H (H.). Radikal-radikal inilah yang nantinya akan bereaksi secara radikal dengan DPPH sehingga dapat meredam panjang gelombang dari DPPH tersebut (Mega dan Swastini, 2010).

Mekanisme reaksi DPPH ini berlangsung melalui transfer elektron. Larutan DPPH akan mengoksidasi senyawa dalam ekstrak etanol daun gaharu. Interaksi antioksidan

dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen kepada DPPH, akan menetralkan radikal bebas DPPH. Semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, akan ditandai dengan warna larutan yang berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang maksimumnya akan hilang (Molyneux, 2004).

#### Hasil Redaman Radikal Bebas DPPH Oleh Sampel Uji

Kemampuan antioksidan ekstrak etanol simplisia daun gaharu dapat diketahui dengan menggunakan parameter aktivitas antioksidan dengan persen peredaman. Kemampuan antioksidan diukur pada menit ke-30 sebagai penurunan serapan larutan DPPH (peredaman radikal bebas DPPH) akibat adanya penambahan larutan uji. Nilai serapan larutan DPPH sebelum dan sesudah penambahan larutan uji tersebut dihitung sebagai persen peredaman.

Hasil analisis yang telah dilakukan, diperoleh nilai persen peredaman pada setiap kenaikan konsentrasi sampel uji, dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Analisis Peredaman Radikal Bebas Ekstrak Etanol Daun Gaharu Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbuh Pohon

Menit ke-	Konsentrasi (ppm)	% Peredaman			
		DMA	DTA	DML	DTL
30	0	0	0	0	0
	40	92,10	22,26	65,82	69,75
	60	92,91	25,31	81,54	73,07
	80	93,54	27,94	86,82	88,38
	100	93,80	35,72	87,42	89,23

Pada Tabel 6. Persen peredaman pada daun muda dari Arboretum USU lebih tinggi aktivitas peredamannya. Hal ini juga dihubungkan dengan semakin menurunnya nilai absorbansi DPPH. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin menurun nilai absorbansi DPPH dan semakin meningkat konsentrasi sampel uji, maka akan semakin meningkat nilai aktivitas peredamannya karena semakin banyak DPPH yang berpasangan dengan atom hidrogen dari ekstrak yang diuji sehingga serapan DPPH menurun. Hubungan konsentrasi dan persen peredaman DPPH berbanding lurus, yaitu semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi aktivitas peredaman DPPH oleh sampel uji ekstrak etanol daun gaharu.

Aktivitas peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil) berdasarkan kemampuan bahan uji dalam mereduksi atau menangkap radikal DPPH yang dapat dilihat dari

No.	Kategori	Konsentrasi (µg/ml)
1	Sangat kuat	<50
2	Kuat	50-100
3	Sedang	101-150
4	Lemah	151-200

perubahan warna ungu dari larutan DPPH setelah dicampur dengan sampel uji menjadi warna kuning. Dengan demikian dapat dinyatakan bahwa ekstrak etanol daun gaharu mempunyai sifat antioksidan pada pengujian DPPH. Daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) memiliki potensi sebagai antioksidan, mengandung golongan senyawa-senyawa yang mempunyai potensi sebagai antioksidan umumnya merupakan senyawa flavonoida (Kumalaningsih, 2006).

Aktivitas peredaman daun tua dari Arboretum USU lebih rendah karena kadar tanin yang terdapat pada daun tua dari Arboretum USU sangat tinggi yaitu sebesar 1,80%. Kadar senyawa tanin pada daun tua dari Arboretum USU tinggi disebabkan faktor tempat tumbuh pohon berpengaruh nyata terhadap kandungan senyawa kimia tanin. Hal ini sesuai dengan pendapat Prayitno (1982), bahwa terdapat beberapa faktor yang menyebabkan perbedaan kadar tanin antara lain; perbedaan jenis pohon, umur, tempat tumbuh, dan ketinggian juga bervariasi tergantung pada letak geografis dan musim. Kadar tanin yang terkandung didalam daun gaharu tersebut berpotensi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas.

#### Nilai IC<sub>50</sub> (Inhibitory Concentration) Sampel Uji

Nilai IC<sub>50</sub> diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi linier yang didapatkan dengan cara memplot konsentrasi larutan uji dan persen peredaman DPPH sebagai parameter aktivitas antioksidan, dimana konsentrasi larutan uji (ppm) sebagai absis (sumbu X) dan nilai persen peredaman sebagai ordinat (sumbu Y). Penentuan potensi aktivitas peredaman radikal bebas DPPH ekstrak etanol daun gaharu simplisia daun muda dari Arboretum USU, daun tua dari Arboretum USU, daun muda dari Langkat, dan daun tua dari Langkat dinyatakan dengan parameter IC<sub>50</sub> yaitu konsentrasi senyawa uji yang menyebabkan peredaman radikal bebas sebesar 50%. Kategori

penentuan kekuatan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Kategori Kekuatan Aktivitas Antioksidan Dikutip dari Mardawati, dkk., 2008.

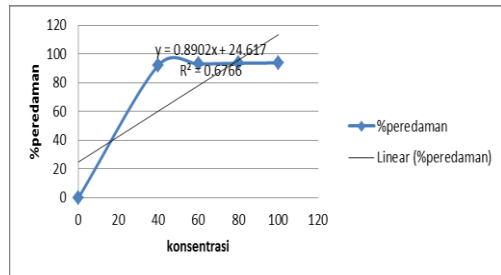
Kemampuan sampel uji dalam memerangkap 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) sebagai radikal bebas dalam larutan metanol dengan nilai IC<sub>50</sub> (konsentrasi sampel uji yang mampu memerangkap radikal bebas sebesar 50%) digunakan sebagai parameter untuk menentukan aktivitas antioksidan sampel uji tersebut (Prakash, 2001). Hasil persamaan regresi linier ( $Y = AX + B$ ) dan IC<sub>50</sub> diperoleh setelah menghitung nilai persen peredaman untuk ekstrak etanol daun gaharu dan ekstrak etanol simplisia dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Persamaan Regresi Linier Ekstrak Etanol Daun Gaharu dan IC<sub>50</sub> Berdasarkan Perbedaan Tempat Tumbuh Pohon

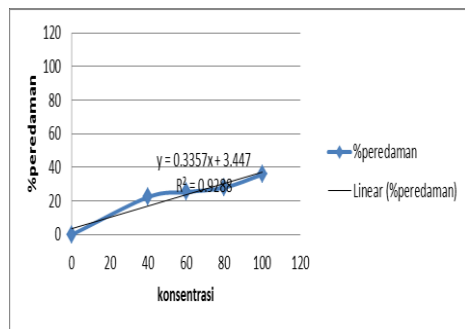
Jenis daun	Persamaan linier	IC <sub>50</sub>
DMA	$Y = 0,89030 X + 24,617$	28,50
DTA	$Y = 0,33575 X + 3,447$	43,20
DML	$Y = 0,87898 X + 15,100$	39,70
DTL	$Y = 0,8823 X + 14,6772$	40,03

Nilai IC<sub>50</sub> didapatkan dari nilai X setelah mengganti Y = 50 pada persamaan regresinya. Nilai IC<sub>50</sub> dihitung berdasarkan persentase inhibisi terhadap radikal bebas DPPH dari masing-masing konsentrasi larutan sampel. Hasil analisis nilai IC<sub>50</sub> dapat diperoleh berdasarkan perhitungan persamaan regresi pada Tabel 8 dan persen peredaman Tabel 6. Pada Tabel 8 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gaharu simplisia daun muda dari Arboretum USU memiliki nilai IC<sub>50</sub> sebesar 28,50 ppm, daun tua dari Arboretum USU sebesar 43,20 ppm, daun muda dari Langkat 39,70 ppm, dan daun tua dari Langkat sebesar 40,03 ppm. Nilai IC<sub>50</sub> terbesar terdapat pada daun tua dari Arboretum USU dan terkecil pada daun muda dari Arboretum USU. Daun muda daun gaharu memiliki kadar tanin yang rendah, sedangkan daun tua memiliki kadar tanin yang tinggi, kadar tanin sangat berpengaruh terhadap antioksidan karena senyawa tanin merupakan salah satu komponen senyawa kimia antioksidan. Hal ini sesuai dengan pernyataan (Desmiaty, dkk., 2008) bahwa tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, anti diare, anti bakteri dan antioksidan. Kandungan tanin yang terkandung dalam daun gaharu berpotensi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas. Gambar 11, Gambar

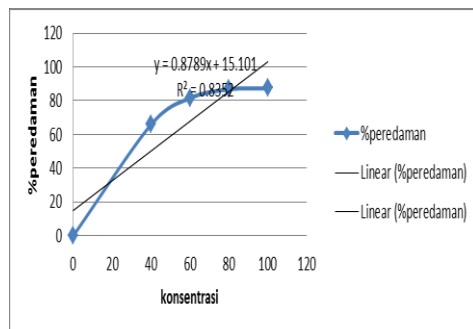
12, Gambar 13 dan Gambar 14 di bawah ini menunjukkan hubungan aktivitas peredaman dan konsentrasi ekstrak etanol simplisia berdasarkan perbedaan tempat tumbuh pohon.



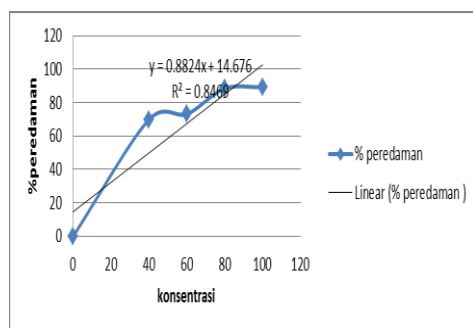
Gambar 11. Kurva Hubungan Peredaman dan Konsentrasi ekstrak simplisia Daun Muda Arboretum



Gambar 12. Kurva Hubungan Peredaman dan Konsentrasi pada Simplisia Daun Tua Arboretum



Gambar 13. Kurva Hubungan Peredaman dan Konsentrasi ekstrak simplisia Daun Muda Langkat



Gambar 14. Kurva Hubungan Peredaman dan Konsentrasi pada Simplisia Daun Tua Langkat

Ditinjau dari kategori kekuatan aktivitas antioksidan, ekstrak etanol simplisia daun muda dari Arboretum USU, daun tua dari Arboretum USU, daun muda dari Langkat dan daun tua Langkat masih termasuk dalam kategori sangat kuat dengan nilai lebih kecil dari 50 ppm. Hal ini dapat terjadi karena pada ekstrak tersebut diperkirakan mengandung senyawa aktif sebagai antioksidan. Menurut Suratmo (2009), senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat diprediksi dari golongan fenolat, flavonoid dan alkaloid yang merupakan senyawa-senyawa polar.

Dapat disimpulkan bahwa nilai  $IC_{50}$  berbanding terbalik dengan potensi peredaman radikal bebas. Semakin besar nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh maka potensi aktivitas antioksidannya semakin kecil, artinya konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghasilkan aktivitas peredaman radikal bebas sebesar 50% semakin besar.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

- Berdasarkan hasil penelitian daun gaharu dari perbedaan tempat tumbuh pohon tidak berbeda walaupun berbeda tempat tumbuh pohon gaharu (*A. malaccensis* Lamk). Daun muda dan daun tua dari Arboretum USU dan Langkat mengandung senyawa metabolit sekunder yang sama dan bermanfaat bagi manusia yaitu glikosida, flavonoid, steroid/triterpenoid dan tanin yang berpotensi sebagai antioksidan untuk menangkal radikal bebas.
- Hasil pemeriksaan aktivitas antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer sinar tampak pada panjang gelombang 516 nm pada menit ke-30 diperoleh hasil ekstrak etanol daun gaharu simplisia yang muda dan yang tua dari Arboretum USU memiliki  $IC_{50}$  sebesar 28,50 ppm dan 43,20 ppm dan hasil ekstrak etanol daun gaharu simplisia dari Langkat memiliki  $IC_{50}$  sebesar 39,70 ppm dan 40,03 ppm. Hasil pengujian ini diketahui ekstrak etanol daun gaharu simplisia memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat.

### Saran

Kepada peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan pengujian ekstrak daun gaharu (*A. malaccensis* Lamk.) dengan pelarut yang

berbeda dan pengujian efek lain misalnya anti kanker, anti bakteri, anti virus serta perlu dilakukan karakterisasi simplisia daun gaharu.

## DAFTAR PUSTAKA

- Andayani, R., Y. Lisawati dan Maimunah. 2008. Penentuan Aktivitas Antioksidan, Kadar Fenolat Total dan Likopen Pada Buah Tomat (*Solanum lycopersicum* L). Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi 13(1).
- Andriani, A. 2011. Skrining Fitokimia dan Uji Penghambatan Aktivitas  $\alpha$ -Glukosidase pada Ekstrak Etanol dari Beberapa Tanaman yang Digunakan Sebagai Obat Antidiabetes. FMIPA. UI. Depok.
- Aruoma, O.I. 1994. *Free radicals and antioxidant strategies in sports*. J Nutr Biochem 5: 370-381.
- Asih LA, Gunawan IG, Ariani NM. 2010. Isolasi dan identifikasi senyawa golongan triterpenoid dari ekstrak n-heksan daun kepuh (*Sterculia foelida* L.) serta uji aktivitas antiradikal bebas. Jurnal Kimia 4 : 135-140.
- Atmoko, T. dan A. Ma'ruf. 2009. Uji Toksisitas dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orangutan Terhadap Larva *Artemia Salina* L. Jurnal Penelitian dan Konservasi Alam. 6 : 37-45.
- Departemen Kesehatan, 1989. Vademakum Bahan Obat Alam. Dirjen POM Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Dharmawan, N., Purnama D, Eni H. 1999. Kemampuan Ekstrak Fraksi-Fraksi Buah Pace (*Morinda citrifolia*) sebagai Antibakteri, Prosiding Seminar Nasional Pangan, Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Desmiaty, Y. Ratih H. Dewi MA. Agustin R. 2008. Penentuan Jumlah Tanin Total pada Daun Jati Belanda (*Guazuma ulmifolia* Lamk) dan Daun Sambang Darah (*Excoecaria bicolor* Hassk) Secara Kolometri dengan Pereaksi Biru Prusia. Ortocarpus. 8 : 106-109
- Ditjen POM. 1979. Farmakope Indonesia. Edisi Ketiga. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 29-31.
- Ditjen POM. 1995. Materia Medika Indonesia, Jilid VI. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. Hal. 321-326, 333-337.
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Farnsworth, N.R. 1996. *Biological and Phytochemical Screening of Plants*. Journal of Pharmaceutical Sciences 55(3):263.
- Gamse, T., (2002), *Liquid-Liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction, Institute of Thermal Process and Environmental Engineering. Graz University of Technology*. Hal. 2-24.
- Handoko, 1995. Klimatologi Dasar. Dunia Pustaka Jaya, Jakarta. Hal 20-23
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah. Bandung: ITB. Terjemahan dari: *Phytochemical Methods* oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB. Bandung. Hal 47-245.
- Hernani dan Rahardjo, M. 2006. Tanaman Berkhasiat Antioksidan: Berbagai Jenis Tanaman Penangkal Racun. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Ionita, P. 2005. *Is DPPH Stable Free Radical a Good Scavenger for Oxygen Active Species?*. Bucharest. Chemical Paper.
- Irianti, A. 2008. Aplikasi Ekstrak Daun Sirih dalam Menghambat Oksidasi Lemak Jambal Patin. Tesis. Sekolah Pascasarjana Intitut Pertanian Bogor. Bogor.
- Lenny S. 2006. Senyawa flavanoida, fenilpropanoida dan alkaloida. [makalah]. Medan: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Lusiana. 2010. Kemampuan Antioksidan Asal Tanaman Obat dalam Modulasi Apoptosis Sel Khamir (*Saccharomyces*

- cerevisiae*). Tesis. Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Kumalaningsih, S. 2006. Antioksidan Alami, Penangkal Radikal Bebas: Sumber, manfaat, cara Penyediaan dan Pengolahan. Trubus Agrisana. Surabaya. Hal. 4-5, 24, 43.
- Malangngi, L P. Meiske S S. Jessy J E P. 2012. Penentuan Kandungan Tanin dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Buah Alpukat (*Persea americana Mill.*). jurnal MIPA UNSRAT 1 : 5-10
- Mardawati, E., F. Filianty dan H. Harta. 2008. Kajian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L*) dalam Rangka Pemanfaatan Limbah Kulit Manggis di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya. Hal. 4.
- Marliana, S. D., V. Suryanti, dan Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule Jacq. Swartz.*) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi. 3 : 26-31.
- Mega, IM dan D.A.Swastini. 2010. Skrining Fitokimia dan Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Metanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*).
- Molyneux, P. 2004. *The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity.* Songklanakarin J. Sci. Technol .
- Muchtadi D. 2001. Kajian terhadap serat makanan dan antioksidan dalam berbagai jenis sayuran untuk pencegahan penyakit degeneratif [Laporan penelitian]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor
- Muhilal. 1991. Teori radikal bebas dalam gizi dan kedokteran Cermin Dunia Kedokteran.
- Paturau, J.M. 1982. *By Product of Cane Sugar Industry.* Elsevier Scientific Publishing Co. Amsterdam Windholz.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant Activity.* Analytical Progress. 19(2): 1-4.
- Prayitno, T.A. 1982. Pengaruh Umur terhadap Kadar Tanin dalam Pohon. *Duta Rimba* 8 : 43 – 44.
- Rauf, A. 2009. Profil Arboretum USU 2006-2008. USU Press. Medan.
- Robinson, T. 1995. Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi. Penerbit ITB Bandung. Bandung. Hal. 152-154.
- Rusdi. 1998. Tumbuhan Sebagai Sumber Bahan Obat. Pusat Penelitian Universitas Andalas. Padang.
- Silaban, S. 2013. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Aquilaria malaccensis Lamk.*). USU. Medan
- Silalahi, J. 2006. Makanan Fungsional. Penerbit Kanisius. Yogyakarta. Hal 40, 47-48.
- Sirait M. 2007. Penentuan Fitokimia dalam Farmasi. Bandung: ITB
- Suratmo. 2009. Potensi ekstrak daun sirih merah (*Piper crocatum*) sebagai antioksidan. [http://fisika.ub.ac.id/bss-ub/PDF%20FILES/BSS\\_205\\_1.pdf](http://fisika.ub.ac.id/bss-ub/PDF%20FILES/BSS_205_1.pdf) [12 Februari 2014].
- Siregar, N.2013. Evaluasi Kemampuan dan Kesesuaian Lahan Terhadap Tanaman Kehutanan di Arboretum Kampus Kuala Bekala Universitas Sumatera Utara Kabupaten Deli Serdang Sumatera Utara. USU Press. Medan.
- Sumarna, Y. 2002. Budidaya Gaharu: Seri Agribisnis. Penebar Swadaya. Jakarta. Hal 16-18
- Sumarna, Y. 2007. Budidaya dan Reka-yasa Produksi Gaharu. Temu Pakar Pengembangan Gaharu. Direktorat Jenderal RLPS, Jakarta. Hal 24-26
- Sumarna, Y. 2009. Gaharu; Budidaya dan Rekayasa Produksi. Penebar Swadaya, Jakarta. Hal 22-25
- Tarigan, K. 2004. Profil Pengusahaan (Budidaya) Gaharu. Pusat Bina Penyuluhan

Kehutanan. Departemen Kehutanan.  
Jakarta.

Thompson, E. B. 1985. Drug Bioscreening.  
America: Graceway Publishing  
Company. Inc. 40 : 118.

Trilaksani, W. 2003. Antioksidan: jenis, sumber,  
mekanisme kerja dan peran terhadap  
kesehatan. Makalah. Sekolah  
Pascasarjana, Institut Pertanian  
Bogor. Bogor.

Tyler, V.E., L.R Brady and J.E Robbers. 1976.  
*Pharmacognosy. Seventh Edition.*  
*Philadelphia: Lea and Febiger.*

World Health Organization. 1998. *Quality Control  
Methods For Medicinal Plant Materials.*  
Geneva: WHO. Halaman 26-27.

Yuhernita, Juniarti. 2011. Analisis senyawa  
metabolit sekunder dari ekstrak  
methanol daun surian yang berpotensi  
sebagai anti oksidan. Makalah Sains

Yusnita. 2003. Kultur Jaringan; Cara  
Memperbanyak Tanaman Secara  
Efisien. Agromedia Pustaka. Jakarta.



